

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 24520081153490

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

β -二酮类化合物的合成及其活性研究
Synthesis of dibenzoylmethane analogues and study of their activities

张 冲

指导教师姓名: 赵玉芬 教授

吴 振 教授

专 业 名 称: 药 物 化 学

论文提交日期: 2011 年 6 月

论文答辩日期: 2011 年 6 月

学位授予日期: 2011 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2011 年 6 月

β -二酮类化合物的合成及其活性研究

张冲

指导教师

赵玉芬 教授
吴振 教授

厦门大学

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

摘 要

二苯甲酰甲烷 (1, 3-Diphenyl-propane-1, 3-dione, DBM) 是从甘草中提取的一种具有 β -二酮结构的黄酮类天然产物, 在溶剂萃取、有机合成、化学分析、立体化学、热塑性塑料用光、热稳定剂等领域有着广泛的应用。近年来, 人们发现DBM具有抗氧化, 抗炎, 抗HIV 和抗肿瘤等药理作用, 并具有毒性低、生物利用度高和资源丰富等优点, 能够诱导细胞周期停滞和细胞凋亡, 是一种很有发展前景的抗肿瘤药。本论文以DBM为母核, 合成了一系列具有 β -二酮结构的类似物, 采用红外、质谱和核磁等谱学方法进行表征, 并用人体肝癌BEL-7402、纤维肉瘤HT1080细胞和宫颈癌HeLa细胞进行体外活性筛选, 研究化合物的抗肿瘤活性规律, 阐述 β -二酮类化合物的抗肿瘤构效关系, 为抗肿瘤药物设计, 提供理论和实验依据。

本文以 β -二酮结构为目标官能团, 设计合成多个与 β -二酮结构相关的化合物, 进一步研究了具有 β -二酮结构的化合物发挥抗肿瘤活性的结构规律及对分子机制的影响, 探索化学小分子对细胞凋亡过程的调控规律, 高效准确地阐述化合物活性本质, 为新药开发奠定基础。体外抗肿瘤实验结果表明, 化合物的抗肿瘤活性产生于 β -二酮烯醇式结构, 并与其烯醇式与酮式互变比例有密切关系, 即随着烯醇式与酮式比例的增加, 抗肿瘤活性逐渐增强。芳环 α 位的羟基官能团能够增强 β -二酮化合物的活性。与N-乙酰半胱氨酸的反应及Western blot实验结果表明, β -二酮结构是通过下调Bcl-2和上调Bax线粒体蛋白、促进细胞色素c释放, 并上调CHOP, 达到诱导肿瘤细胞凋亡的目的。 β -二酮烯醇式结构做为亲核加成反应的受体, 通过线粒体途径和内质网应急反应途径调控其诱导细胞凋亡能力, 发挥抗肿瘤作用。

关键词: 二苯甲酰甲烷; β -二酮; 抗肿瘤; 凋亡

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

The natural product dibenzoylmethane (1, 3-Diphenyl-propane-1, 3-dione, DBM), obtained from the licorice, is widely used in a variety of fields, such as solvent extraction, organic synthesis, chemical analysis, stereochemistry, thermoplastic plastic and heat-stable inhibitor. Recently, DBM has been found to exhibit numerous biological activities including anti-oxidation, anti-inflammatory, anti-HIV, anti-tumor, and anti-angiogenesis activities. Besides, it has the merits of hypo toxicity, high biological exploitability and abundant resources and induce cell apoptosis. Thus, DBM is identified as a promising antineoplastic agent. In the present study, we used DBM as the nuclear parent and synthesized a series of β -diketone analogues. The structure of the products was identified by NMR, MS and IR. We investigated the anti-tumor activity of these compounds on BEL-7402, HT1080 and Hela cells by CCK8 assay, and researched the relationship between the structure of these compounds and their anti-tumor activities, which can be the basis of theory and the experiment on researching anti-tumor active rule.

According to the functional group of β -diketone, we designed and synthesized a series of compounds containing the structure of β -diketone to study the structure-activity relationship and the mechanism of inducing tumor cell apoptosis. We found that β -diketone was a cytotoxic functional group and with the increase in the ratio of enol to keto, cytotoxicity of β -diketone enhances. In vitro, β -diketone formed non-classical Michael adducts with sulfhydryl nucleophile NAC as nucleophilic addition. Hydroxyl group on α position of aromatic ring could strengthen anti-tumor activity of β -diketone. These data obviously indicated the role of β -diketone in toxicity and revealed that β -diketone configuration affected cytotoxicity by governing detoxification through the rate of adduct formation. Moreover, we found that DBM-induced apoptotic cell death was accompanied by upregulation of IRE1, CHOP, Bip, Bax, CYC and down-regulation of Bcl-2. It was suggested that the

chemopreventive activity of DBM resulted from its ability to induce cell apoptosis by accumulation of endoplasmic reticulum stress through the mitochondrial pathway.

Key words: 1, 3-Diphenyl-propane-1, 3-dione; β -diketone; anti-tumor; apoptosis

厦门大学博士论文摘要库

缩 略 语

符号	英文含义	中文含义
OD	optical density	光密度
IC ₅₀	half-maximal inhibitory concentration	半数抑制浓度
DMSO	Dimethyl Sulphoxide	二甲亚砜
PBS	Phosphate-buffered saline	磷酸缓冲液
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基磺酸钠
PMSF	Phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
NAC	N-acetyl-L-cysteine	N-乙酰-L-半胱氨酸
P-TsOH	p-toluenesulfonic acid	对甲基苯磺酸
CHOP	C/EBP Homology Protein	C/EBP 同源蛋白
CYC	Cytochrome C	细胞色素 C
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass	电喷雾电离质谱
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	核磁共振
HPLC	High Performance Liquid	高效液相色谱
h	Hour	小时
min	Minute	分钟
r.t.	Room Temperature	室温
Py	Pyridine	吡啶
TLC	Thin Layer Chromatography	薄层色谱
HIV	Human Immune deficiency Virus	艾滋病病毒

目 录

摘要.....	I
Abstract.....	III
缩略语	V
第一章 综述.....	1
1.1 引言	1
1.2 临床使用及正在开发的抗肿瘤药物	2
1.2.1 细胞毒药物.....	2
1.2.2 内分泌治疗药.....	5
1.2.3 免疫治疗药.....	6
1.2.4 基因治疗药.....	7
1.2.5 靶向抗肿瘤药.....	7
1.3 天然抗肿瘤药物的研究.....	11
1.4 二苯甲酰甲烷的研究进展.....	16
1.4.1 二苯甲酰甲烷类化合物的药理活性研究	16
1.4.2 二苯甲酰甲烷类化合物在材料学中应用研究.....	16
1.4.2 二苯甲酰甲烷类化合物的其他应用研究	16
参考文献.....	18
第二章 合成实验.....	23
2.1 引言	23
2.2 实验部分	23
2.2.1 主要实验试剂.....	23
2.2.2 主要实验仪器.....	24
2.2.3 DBM 及其类似物的合成方法	27
2.2.4 α -羟基- β -二酮化合物的合成方法.....	38

参考文献	64
第三章 体外活性实验	65
3.1 引言	65
3.2 实验部分	65
3.2.1 实验材料	65
3.2.2 细胞培养	66
3.2.3 体外抗肿瘤实验	67
3.2.4 油水分配系数 Log _p 的测定	68
3.2.5 统计学处理	68
3.2.6 实验结果	68
3.3 小结与讨论	72
参考文献	73
附录	73
第四章 DBM 及其类似物诱导肿瘤细胞凋亡机制的研究	75
4.1 引言	75
4.1.1 Bcl-2 家族对细胞凋亡的影响	75
4.1.2 p53 与细胞凋亡	77
4.1.3 MAPKs 家族与细胞凋亡	77
4.1.4 Caspase 蛋白酶与细胞凋亡	78
4.2 实验部分	78
4.2.1 实验试剂与仪器	78
4.2.2 DBM 及其类似物的体外抗肿瘤活性比较	80
4.2.3 N-乙酰-L-半胱氨酸 (NAC) 对 DBM 及其类似物的活性影响	80
4.2.4 DBM 及 PTFPD 与 NAC 的加成反应	81
4.2.5 SDS-PAGE 蛋白电泳实验	81
4.2.6 统计学处理	83
4.2.7 实验结果	83
4.3 小结与讨论	94

参考文献.....	95
硕士期间发表的学术论文.....	98
致谢.....	99

厦门大学博士论文摘要库

厦门大学博硕士论文摘要库

Contents

Abstract(Chinese)	I
Abstract(English)	III
Abbreviations	V
Chapter 1 Review	1
1.1Introduction	1
1.2 Clinical use and being developed anti-cancer drugs	2
1.2.1 Cytotoxic drugs	2
1.2.2 Internal secretion drugs	5
1.2.3 Immunesutance	6
1.2.4 Genetherapy drugs.....	7
1.2.5 Targeted drugs	7
1.3 Natural anti-cancer drugs research	11
1.4 Progress of DBM research	16
1.4.1 Pharmacological activity of DBM and its analogues	16
1.4.2 Application research in material science	16
1.4.3 Application research in other aspects	16
References	18
Chapter 2 Synthesis experiments	23
2.1 Introduction	23
2.2 Experimental part	23
2.2.1 Main reagents	23
2.2.2 Main equipment.....	24
2.2.3 Experimental methods of DBM and its analogues.....	27
2.2.4 Experimental methods of α - hydroxyl- β -diketone	38
References	64

Chapter 3 Anti-tumor activity in vitro	65
3.1 Introduction	65
3.2 Experimental part	65
3.2.1 Reagents and equipment	65
3.2.2 Cell culture	66
3.2.3 Anti-tumor activity in vitro	67
3.2.4 Determination of oil-water distribution(logP)	68
3.2.5 Statistical processing	68
3.2.6 Experimental results	68
3.3 Summary and discussion	72
References	73
 Chapter 4 The mechanisms of DBM and its analogues-induced cell apoptosis	75
4.1 Introduction	75
4.1.1 Bcl-2 family and cell apoptosis	75
4.1.2 p53 and cell apoptosis	77
4.1.3 MAPKs family and cell apoptosis	77
4.1.4 Caspase protease and cell apoptosis	78
4.2 Experimental part	78
4.2.1 Reagents and equipment	78
4.2.2 DBM and its analogues in vitro anti-tumor activity	80
4.2.3 The affect of NAC on the activity of DBM and its analogs	80
4.2.4 The addition reaction of DBM and PTFPD with NAC	81
4.2.5 SDS-PAGE western blots	81
4.2.6 Statistical processing	83
4.2.7 Experimental results	83
4.3 Summary and discussion	94
References	95

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库